

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 196 54 211 A 1**

⑤1 Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**G 02 B 21/00**  
G 02 B 21/06  
// G 02 B 21/16

②1 Aktenzeichen: 196 54 211.1  
②2 Anmeldetag: 24. 12. 96  
④3 Offenlegungstag: 13. 8. 98

DE 196 54 211 A 1

⑦1 Anmelder:  
Leica Lasertechnik GmbH, 69120 Heidelberg, DE  
  
⑦4 Vertreter:  
Ullrich & Naumann, 69115 Heidelberg

⑦2 Erfinder:  
Engelhardt, Johann, Dr., 76669 Bad Schönborn, DE;  
Ihrig, Christiane, Dr., 68219 Mannheim, DE

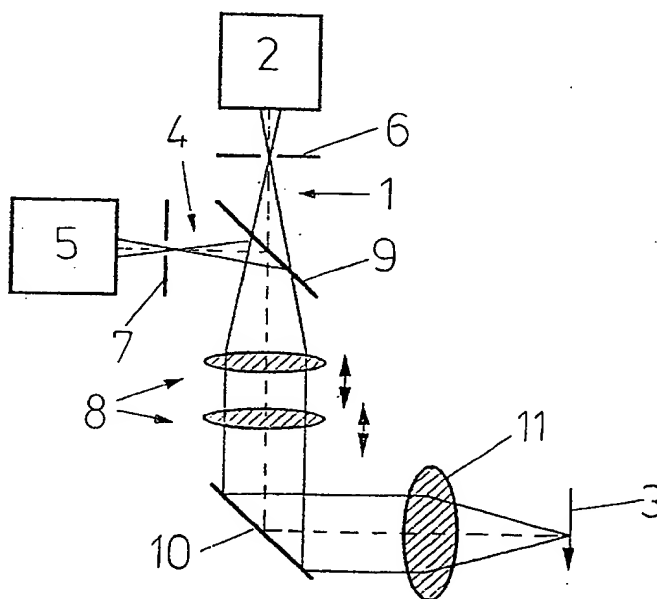
⑤6 Entgegenhaltungen:  
DE 44 29 416 A1  
DE 38 04 642 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops

⑤7 Eine optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops, insbesondere eines konfokalen Rastermikroskops, wobei sowohl im Beleuchtungsstrahlengang (1) zwischen Lichtquelle (2) und Objekt (3), als auch im Detektionsstrahlengang (4) zwischen Detektor (5) und Objekt (3) jeweils eine Lochblende - Beleuchtungslochblende (6) bzw. Detektionslochblende (7) - angeordnet ist, ist zur kontinuierlichen Tiefendiskrimination sowie zur optimalen Anpassung an Objektive, Wellenlängen und Ausbeute derart ausgestaltet und weitergebildet, daß mindestens zwischen einer der Lochblenden (6, 7) und dem Objekt (3) eine Varioptik (8) zur Variation des optisch wirksamen Lochblendendurchmessers vorgesehen ist.



131

DE 196 54 211 A 1

Die Erfindung betrifft eine optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops, insbesondere eines konfokalen Rastermikroskops, wobei sowohl im Beleuchtungsstrahlengang zwischen Lichtquelle und Objekt als auch im Detektionsstrahlengang zwischen Detektor und Objekt jeweils eine Lochblende - Beleuchtungslochblende bzw. Detektionslochblende - angeordnet ist.

Optische Anordnungen der hier in Rede stehenden Art sind bereits seit langem aus der Praxis bekannt. Lediglich beispielhaft wird hierzu verwiesen auf Johann Engelhardt und Werner Knebel in Physik in unserer Zeit, 24. Jahrg. 1993, Nr. 2 "Konfokale Laser-scanning-Mikroskopie", auf J. B. Pawley, in "Handbook of Biological Confocal Microscopy", 2nd Edition, S. 581 ff. sowie auf EP 0 280 375 B1 (Brakenhoff).

Insbesondere im konfokalen Rastermikroskop ist es erforderlich, die Durchmesser der konfokalen Lochblenden an die unterschiedlichen Abbildungsmaßstäbe für verschiedene Mikroskopobjektive anzupassen. Wird die Lochblende zu groß gewählt, so reduziert sich die Auflösung entlang der optischen Achse. Bei zu klein gewählter Lochblende ist dagegen die Lichtausbeute reduziert, was insbesondere bei Fluoreszenzanwendungen nicht tolerierbar ist. Je nach optischer Anordnung haben herkömmliche Lochblenden einen Durchmesser im Bereich zwischen 10  $\mu$ m bis 10 mm.

Aus der Praxis ist es ebenfalls bereits bekannt, bei sehr langen Strahlengängen verstellbare Irisblenden zu verwenden, wobei diese Irisblenden motorisiert sein können. Der minimal nutzbare Durchmesser ist dabei jedoch auf ca. 0,1 mm begrenzt.

Aus mechanisch-geometrischen Gründen sowie aus Gründen der mechanischen Stabilität und somit auch Justierstabilität sind bei der Realisierung konfokaler Optiken kompakte Bauweisen den langen Strahlengängen vorzuziehen. Bei kurzen Strahlengängen werden Lochblenden mit Durchmessern zwischen 5 und 500  $\mu$ m verwendet. Die Variation des Lochdurchmessers kann durch Anordnung mehrerer Lochblenden mit jeweils festem Durchmesser erfolgen, die auf einer Scheibe justiert bzw. auf einem Rad angeordnet sind. Entsprechend läßt sich der Lochdurchmesser in diskreten Schritten verändern. Dies ist allerdings wegen der kleinen Lochdurchmesser und der grundsätzlich erforderlichen Positioniergenauigkeit äußerst problematisch, da eine solche Anordnung extrem justieranfällig ist.

Des weiteren ist aus der Praxis auch bereits eine kontinuierlich einstellbare Lochblende bekannt. Hier läßt sich mit Hilfe einer Motorisierung zweier Paare rechtwinklig zueinander angeordneter feiner Schneiden eine rautenförmige, kontinuierlich variable Öffnung zwischen 20 und 500  $\mu$ m realisieren. Kleinere Durchmesser der Blendenöffnung sind aufgrund der mikromechanischen Anforderungen nach diesem bekannten Prinzip jedoch nicht realisierbar.

Der Erfindung liegt nun die Aufgabe zugrunde, eine optische Anordnung im Strahlengang des Mikroskops, insbesondere eines konfokalen Rastermikroskops, derart auszugestalten und weiterzubilden, daß eine kontinuierliche Tiefendiskrimination sowie eine optimale Anpassung an Objektive, Wellenlängen und Ausbeute mit einfachen Mitteln bei kleinstmöglicher Bauweise möglich ist.

Die erfindungsgemäße optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops, insbesondere eines konfokalen Rastermikroskops, löst die voranstehende Aufgabe durch die Merkmale des Patentanspruchs 1. Danach ist eine optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops der hier in Rede stehenden Art derart ausgestaltet und weitergebildet, daß mindestens zwischen einer der Lochblenden und dem

Objekt eine Variooptik zur Variation des optisch wirksamen Lochblendendurchmessers vorgesehen ist.

Erfindungsgemäß ist erkannt worden, daß man die Vorteile einer kompakten optischen Anordnung nutzen und dabei Nachteile einer nicht rotationssymmetrischen Rechteckblende mit begrenztem Minimaldurchmesser vermeiden kann, indem man nämlich mindestens zwischen einer der Lochblenden und dem Objekt eine Variooptik zur Variation des optisch wirksamen Lochblendendurchmessers vorsieht. Die Variooptik dient zur Variation des optisch wirksamen bzw. scheinbaren Lochblendendurchmessers, wobei durch die Variation des Vergrößerungsfaktors bei fester Fokallage kontinuierlich die gewünschte Tiefendiskrimination einstellbar ist und eine optimale Anpassung an Objekte, Wellenlänge und Ausbeute erfolgen kann.

Wie bereits zuvor erwähnt, ist mindestens zwischen einer der Lochblenden und dem Objekt eine Variooptik vorgesehen, wobei die Variooptik nur für die Lichtquelle, nur für den Detektor oder sowohl für die Lichtquelle als auch für den Detektor wirksam sein kann. Im Rahmen der zuerst genannten Ausgestaltung könnte die Variooptik zwischen der Beleuchtungslochblende und einem Strahlteiler angeordnet sein. Für den Fall, daß die Variooptik nur für den Detektor wirksam ist, könnte die Variooptik zwischen der Detektionslochblende und dem Strahlteiler angeordnet sein. Mit anderen Worten könnte man die Variooptik einerseits der Beleuchtungslochblende und andererseits der Detektionslochblende zum Objekt hin bzw. zum Strahlteiler hin nachordnen.

Solfern die Variooptik sowohl für die Lichtquelle als auch für den Detektor wirksam sein soll, könnte man die Variooptik zwischen dem Strahlteiler und dem Objekt bzw. einem davor angeordneten Objekt und/oder einem Scanner anordnen. Jedenfalls ist im Rahmen einer solchen Ausgestaltung lediglich eine einzige Variooptik erforderlich, die nämlich in dem gemeinsamen Beleuchtungsstrahlengang zwischen Lichtquelle und Objekt einerseits und zwischen Detektor und Objekt andererseits angeordnet ist.

Wie bereits zuvor erwähnt, kann im Strahlengang vor dem Objekt eine Anordnung von Objektiven vorgesehen sein. Wiederum vor diesen Objektiven könnte ein Scanner in herkömmlicher Weise angeordnet sein.

In besonders vorteilhafter Weise kann es sich bei der Variooptik um eine vorzugsweise motorisierte Zoomoptik handeln. Diese kann wiederum als übliche Zoomoptik ausgeführt sein, wie sie bspw. in Videokameras Verwendung findet. Jedenfalls ist es von ganz besonderem Vorteil, wenn sich bei der Zoomoptik bei fester Fokalebene die Vergrößerung oder bei fester Vergrößerung die Fokalebene variieren läßt, so daß eine optimale Variationsmöglichkeit gegeben ist.

Die Variooptik kann in der Weise ausgestaltet sein, daß restliche Farblängsfehler anderer optischer Komponenten des Rastermikroskops ausgeglichen werden.

Der zweite Effekt erlaubt es zusätzlich, daß die Fokalebene durch optische Mittel variiert werden kann, ohne daß das Objekt relativ zum Mikroskopobjektiv bewegt werden muß. Der sich daraus ergebende Vorteil liegt darin, daß der dynamische Einfluß durch die Viskosität des Öls bei der Immersionsmikroskopie keinen Einfluß auf die Fokussierung oder bei Abbildungen entlang der optischen Achse hat.

Ein ganz großer Vorteil der erfindungsgemäßen Anordnung liegt des weiteren darin, daß sowohl die Beleuchtungslochblende als auch die Detektionslochblende als Lochblende mit festem Durchmesser ausgeführt sein kann, so daß hier keine Mikromechanik erforderlich ist. Vorzugsweise sind die Lochblenden mit rundem Durchgang ausgeführt, um nämlich den negativen Effekt der aus der Praxis bekann-

ten rautenförmigen variablen Lochblende ausschließen zu können. In Verbindung mit der Variooptik läßt sich der wirk-  
same Durchmesser bis hin zur Beugungsgrenze ohne fein-  
mechanisch aufwendige Techniken und ohne weiterrei-  
chende Begrenzungen erreichen nämlich lediglich unter  
Verwendung von Lochblenden mit runden, festem Durch-  
messer.

Hinsichtlich einer alternativen Ausgestaltung der Loch-  
blende ist es denkbar, diese durch das Ende einer Lichtleit-  
faser darzustellen, wobei eine solche Darstellung sowohl für  
die Beleuchtungslochblende als auch für die Detektions-  
lochblende möglich ist. Die Lichtleitfaser könnte dabei als  
Monomode-Faser ausgeführt sein.

Die Beleuchtungslochblende könnte unmittelbar durch  
eine hinreichend kleine Lichtquelle dargestellt sein, wobei  
sich hier eine Kurzhogenlampe ganz besonders eignet.

Die Detektionslochblende könnte alternativ durch einen  
hinreichend kleinen Detektor dargestellt sein, wobei hier ein  
ein- oder mehrdimensionales Array in Frage kommt.

Es gibt nun verschiedene Möglichkeiten, die Lehre der  
vorliegenden Erfindung in vorteilhafter Weise auszugestalt-  
ten und weiterzubilden. Dazu ist einerseits auf die dem Pa-  
tentanspruch 1 nachgeordneten Ansprüche, andererseits auf  
die nachfolgende Erläuterung eines Ausführungsbeispiels  
der Erfindung anhand der Zeichnung zu verweisen. In Ver-  
bindung mit der Erläuterung des bevorzugten Ausführungs-  
beispiels der Erfindung werden auch im allgemeinen bevor-  
zugte Ausgestaltungen und Weiterbildungen der Lehre er-  
läutert. In der Zeichnung zeigt die Figur in einer schemati-  
schen Darstellung ein Ausführungsbeispiel einer erfin-  
dungsgemäßen optischen Anordnung im Strahlengang eines  
konfokalen Rastermikroskops, wobei das Rastermikroskop  
der Einfachheit halber hier nicht dargestellt ist.

Die einzige Figur zeigt eine optische Anordnung im  
Strahlengang eines konfokalen Rastermikroskops, wobei  
sowohl im Beleuchtungsstrahlengang 1 zwischen Licht-  
quelle 2 und Objekt 3 als auch im Detektionsstrahlengang 4  
zwischen Detektor 5 und Objekt 3 jeweils eine Lochblende  
Beleuchtungslochblende 6 bzw. Detektionslochblende 7  
angeordnet ist.

Erfindungsgemäß ist zwischen den Lochblenden 6, 7 und  
dem Objekt 3 eine Variooptik 8 zur Variation des optisch  
wirksamen Lochblendendurchmessers vorgesehen. Diese  
Variooptik 8 ist entsprechend der hier konkret gewählten  
Anordnung sowohl für die Lichtquelle 2 als auch für den  
Detektor 5 wirksam, ist nämlich zwischen einem Strahlteiler  
9 und dem Objekt 3 angeordnet. Im konkreten ist der Vario-  
optik 8 ein Scanner 10 hier vereinfacht als Scan- und Um-  
lenkspiegel dargestellt und eine Anordnung von Objekti-  
ven 11 nachgeordnet.

Bei der Variooptik 8 handelt es sich um eine motorisierte  
Zoomoptik, wie sie in Videokameras Verwendung findet.  
Dabei läßt sich auf fester Fokalebene die Vergrößerung oder  
bei fester Vergrößerung die Fokalebene variieren.

Sowohl die Beleuchtungslochblende 6 als auch die De-  
tektionslochblende 7 ist als runde Lochblende mit festem  
Durchmesser ausgeführt, wobei sich die Variation des op-  
tisch wirksamen Lochblendendurchmessers ausschließlich  
durch die Variooptik 8 realisieren läßt.

Die Variooptik 8 dient zur Einstellung der Fokuslage oder  
auch zur kontinuierlichen Fokusvariation, um Bilder entlang  
der optischen Achse zu erzeugen. Hinsichtlich weiterer al-  
ternativer Ausgestaltungen der Lochblenden wird zur Ver-  
meidung von Wiederholungen auf den allgemeinen Teil der  
Beschreibung verwiesen.

1. Optische Anordnung im Strahlengang eines Mikro-  
skops, insbesondere eines konfokalen Rastermikro-  
skops, wobei sowohl im Beleuchtungsstrahlengang (1)  
zwischen Lichtquelle (2) und Objekt (3), als auch im  
Detektionsstrahlengang (4) zwischen Detektor (5) und  
Objekt (3) jeweils eine Lochblende - Beleuchtungs-  
lochblende (6) bzw. Detektionslochblende (7) - ange-  
ordnet ist, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens  
zwischen einer der Lochblenden (6, 7) und dem Objekt  
(3) eine Variooptik (8) zur Variation des optisch wirk-  
samen Lochblendendurchmessers vorgesehen ist.
2. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeich-  
net, daß die Variooptik (8) nur für die Lichtquelle (2)  
wirksam ist.
3. Anordnung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeich-  
net, daß die Variooptik (8) zwischen der Beleuchtungs-  
lochblende (6) und einem Strahlteiler (9) angeordnet  
ist.
4. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeich-  
net, daß die Variooptik (8) nur für den Detektor (5)  
wirksam ist.
5. Anordnung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeich-  
net, daß die Variooptik (8) zwischen der Detektions-  
lochblende (7) und einem Strahlteiler (9) angeordnet  
ist.
6. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeich-  
net, daß die Variooptik (8) sowohl für die Lichtquelle  
(2) als auch für den Detektor (5) wirksam ist.
7. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeich-  
net, daß die Variooptik (8) zwischen einem Strahlteiler  
(9) und dem Objekt (3) angeordnet ist.
8. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, da-  
durch gekennzeichnet, daß im Beleuchtungsstrah-  
lung (1) vor dem Objekt (3) gegebenenfalls ein Scan-  
ner (10) und eine Anordnung von Objektiven (11) vor-  
gesehen sind.
9. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, da-  
durch gekennzeichnet, daß die Variooptik derart aus-  
gestaltet ist, daß restliche Farbbläßfehler anderer op-  
tischer Komponenten des Mikroskops ausgeglichen  
werden.
10. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, da-  
durch gekennzeichnet, daß es sich bei der Variooptik  
(8) um eine vorzugsweise motorisierte Zoomoptik han-  
delt.
11. Anordnung nach Anspruch 10, dadurch gekenn-  
zeichnet, daß es sich bei der Zoomoptik um eine in Vi-  
deokameras übliche Zoomoptik handelt.
12. Anordnung nach Anspruch 10 oder 11, dadurch  
gekennzeichnet, daß bei der Zoomoptik Mittel zum Va-  
riieren der Vergrößerung bei fester Fokalebene oder der  
Fokalebene bei fester Vergrößerung vorgesehen sind.
13. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 12,  
dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungsloch-  
blende (6) als runde Lochblende mit festem Durchmes-  
ser ausgeführt ist.
14. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 13,  
dadurch gekennzeichnet, daß die Detektionslochblende  
(7) als runde Lochblende mit festem Durchmesser aus-  
geführt ist.
15. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 14,  
dadurch gekennzeichnet, daß die Lochblende durch das  
Ende einer Lichtleitfaser darstellbar ist.
16. Anordnung nach Anspruch 15, dadurch gekenn-  
zeichnet, daß die Lichtleitfaser als Monomode-Faser  
ausgeführt ist.

17. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungslochblende (6) unmittelbar durch eine hinreichend kleine Lichtquelle (2) dargestellt ist.

18. Anordnung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle (2) als Kurzbogenlampe ausgeführt ist.

19. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß die Detektionslochblende (7) durch einen hinreichend kleinen Detektor (5) dargestellt ist.

20. Anordnung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß der Detektor (5) als ein- oder mehrdimensionales Array ausgeführt ist.

---

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

---

15

20

25

30

35

40

45

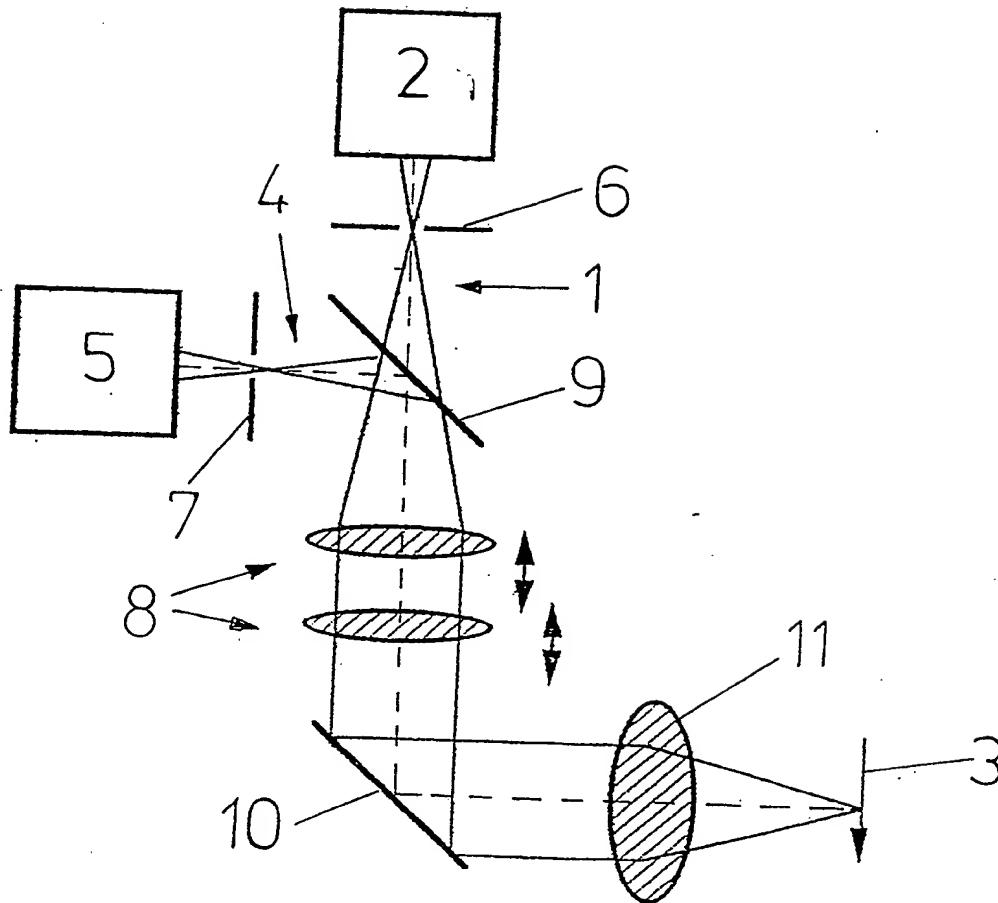
50

55

60

65

- Leerseite -



**Fig. 1**